

⑩ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES

PATENT- UND  
MARKENAMT

⑪ Offenlegungsschrift  
⑫ DE 101 03 954 A 1

⑬ Int. Cl. 7:

G 01 N 33/50

C 12 Q 1/68

C 12 M 1/34

⑯ Aktenzeichen: 101 03 954.9

⑰ Anmeldetag: 30. 1. 2001

⑱ Offenlegungstag: 5. 12. 2002

⑨ Anmelder:

Advalytix AG, 85649 Brunnthal, DE

⑩ Vertreter:

Rechts- und Patentanwälte Lorenz Seidler Gossel,  
80538 München

⑨ Erfinder:

Gauer, Christoph, Dr., 81667 München, DE

⑩ Entgegenhaltungen:

DE	199 40 752 A1
DE	198 27 900 A1
US	56 53 939
WO	94 05 414 A1
WO	00 16 082 A1
WO	00 10 011 A1
JP	10-3 27 590 A

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑪ Verfahren zur Analyse von Makromolekülen

⑫ Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Analyse von Makromolekülen mit Hilfe eines Microarrays, auf dem sich eine Vielzahl von ersten zumindest teilweise unterschiedlichen Makromolekülen in bekannter Anordnung befindet, wobei das Microarray auf einer Festkörperoberfläche angeordnet ist, auf der ein Bereich definiert ist, dessen Benetzungsseigenschaften sich von den umgebenden Festkörperoberflächen derart unterscheiden, daß sich eine Flüssigkeit mit einer Vielzahl von zweiten Makromolekülen bevorzugt darauf aufhält, die Flüssigkeit mit den zweiten Makromolekülen auf die Festkörperoberfläche gebracht wird und zumindest teilweise wieder entfernt wird und ortsaufgelöst die nach dem Entfernungsprozeß verbleibenen zweiten Makromolekül nachgewiesen werden, um aus der Lage feststellen zu können, welche der ersten Makromoleküle mit zweiten Makromolekülen eine Bebindung eingegangen sind. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren, bei dem zur Verteilung und/oder Durchmischung der Flüssigkeit auf einem Microarray eine Oberflächenwelle auf die Flüssigkeit geschickt wird, und eine Vorrichtung zur Durchführung der erfindungsähnlichen Verfahren und vorteilhafte Verwendungen.

E 101 03 954 A 1

DE 101 03 954 A 1

## Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Analyse von Makromolekülen mit Hilfe eines Microarrays.

[0002] Eine Methode zur schnellen Analyse von Makromolekülen umfaßt die Aufbringung in einer regelmäßigen Anordnung auf einem sogenannten Microarray. Die Dichten, die heute auf einem solchen Microarray erreicht werden können, betragen z. B. für DNA (Desoxyribonukleinsäure) bis zu ca. 250.000 verschiedene Arten von Molekülen pro cm<sup>2</sup>. Eine parallele und schnelle Aufbringung der Moleküle ist z. B. mit sogenannten Pipettierrobotern möglich. In einer solchen Arraygeometrie kann eine Analyse, z. B. eine Fluoreszenzmessung einfach durchgeführt werden ("DNA Microarrays", herausgegeben von M. Schena, Oxford University Press, New York, 1999). Untersuchte Stoffe sind z. B. Antikörper, Antigene, Proteine oder DNA.

[0003] In einem solchen Microarray sind verschiedenartige Makromoleküle an verschiedenen Stellen in einer Matrixform angeordnet. Eine Flüssigkeit mit einer anderen Art von Makromolekülen wird über das Microarray gespült, die mit mindestens einer Art von Makromolekülen auf dem Microarray eine spezifische Bindung eingeha. Wird dann die Flüssigkeit wieder von der Oberfläche entfernt, verbleiben nur an den Stellen der spezifischen Bindung die zu untersuchenden Makromoleküle zurück. Mit Hilfe einer ortsaufgelösten Messung, z. B. einer Fluoreszenzmessung, läßt sich feststellen, an welchen Stellen das zu untersuchende Makromolekül vorhanden ist. Aus der bekannten Lage der einzelnen Makromoleküle in der Matrixform des Microarrays kann also festgestellt werden, mit welcher Art von Makromolekülen das zu untersuchende Makromolekül eine spezifische Bindung eingegangen ist.

[0004] Dabei muß sichergestellt sein, daß die zu untersuchenden Makromoleküle mit allen Makromolekülen in der Matrixform in Kontakt kommen können. Dazu muß z. B. die gesamte Oberfläche des Substrates, auf dem sich das Microarray befindet, mit der Flüssigkeit mit dem zu untersuchenden Makromolekül überschwemmt werden.

[0005] Die Dauer eines entsprechenden Experiments ist durch die Diffusion bestimmt und kann daher einige Zeit in Anspruch nehmen. Ist z. B. die Konzentration des zu untersuchenden Makromoleküles in der Flüssigkeit nur gering, so kann es sehr lange dauern, bis es seinen spezifischen Bindungspartner auf dem Array gefunden hat. Darüber hinaus hängt die Reaktionskinetik der spezifischen Bindung von vielen Reaktionsparametern, wie z. B. der Temperatur, der Salzkonzentration und/oder dem pH-Wert, ab, die über einen längeren Zeitraum auf einer Fläche von typischerweise einigen 100 µm<sup>2</sup> bis zu einigen cm<sup>2</sup> nur schwer konstant zu halten sind. Um die daraus resultierende eingeschränkte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu verbessern, werden heute oftmals mehrere gleiche Makromolekilsorten auf dem Microarray an verschiedenen Orten vorgesehen, um so eine statistische Aussagen treffen zu können.

[0006] Die Flüssigkeit mit dem zu untersuchenden Makromolekül, z. B. einem Oligonukleotid, kann auch durch Mikrokanäle über eine Festkörperoberfläche geschickt werden, entlang derer sich Makromoleküle verschiedener Art als Fängeroligonukleotide befinden ("Genion® Technology: From DNA-Chips to DNA-Processors" in "Chips to Hits", 06-09. November 2000, Philadelphia, PA, USA; IBC Conferences Inc.).

[0007] Das zu untersuchende Oligonukleotid kommt dabei in die Nähe aller Fängeroligonukleotide entlang des Kanäles.

[0008] Für einen solchen Stand der Technik ist das Microarray z. B. eine Sandwichstruktur mit externen Pumpen, auf

dessen Unterseite sich eine CCD-Kamera befindet. Boden und Deckel sind durchsichtig, damit die Fluoreszenz des markierten Probenoligonukleotids im Durchlicht gemessen werden kann. Die Flüssigkeiten mit den verschiedenen Oligonukleotiden werden durch geschlossene Kanäle auf dem Array gepumpt. Angesichts eines typischen Querschnitts der Kanäle von 100 µm mal 100 µm ist bei den notwendigen Längen der Kanäle ein Druck von mehreren bar erforderlich, wodurch sowohl die Zuführungen als auch der Chip

selber teuer werden. Die Pumpen und Ventile, die dies leisten, haben notwendigerweise ein Totvolumen, was zu einem Mehrverbrauch der Reagenzien führt.

[0009] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, Verfahren und eine Vorrichtung anzugeben, die es gestatten, bei kleinem Probenvolumen eine möglichst reproduzierbare Analyse durchzuführen.

[0010] Diese Aufgabe wird mit einem Analyseverfahren mit den Merkmalen des Anspruches 1 oder einem Analyseverfahren mit den Merkmalen des Anspruches 2 gelöst. Die Aufgabe wird zudem mit einem Verfahren zur Herstellung eines Microarrays mit den Merkmalen des Anspruches 9 und einer Analysevorrichtung mit den Merkmalen des Anspruches 13 gelöst. Die Unteransprüche sind auf vorteilhafte Ausgestaltungen gerichtet.

[0011] Bei einem Verfahren gemäß Anspruch 1 befindet sich auf einem Microarray eine Vielzahl gegebenenfalls verschiedener erster Makromoleküle in bekannter Anordnung. Das Microarray ist erfindungsgemäß auf einem Bereich einer Festkörperoberfläche angeordnet, der andere Benetzungsseigenschaften aufweist als die umgebende Festkörperoberfläche. Eine Flüssigkeit mit einer Vielzahl zweiter Makromoleküle, die sich – durch die Modulation der Benetzungsseigenschaften bewirkt – bevorzugt auf diesem Aufenthaltsbereich aufhält, wird auf den bevorzugten Aufenthaltsbereich der Festkörperoberfläche gebracht, so daß die zweiten Makromoleküle mit den ersten Makromolekülen in Kontakt kommen können. Nach der weitgehenden Entfernung der Flüssigkeit von dem bevorzugten Aufenthaltsbereich werden ortsaufgelöst die noch auf der Festkörperoberfläche befindlichen zweiten Makromoleküle nachgewiesen. Aus der Lage dieser verbliebenen zweiten Makromoleküle wird festgestellt, welche der ersten Makromoleküle mit Makromolekülen der zweiten Vielzahl eine spezifische Bindung eingegangen sind. Daraus läßt sich die Art bzw. die Arten der in der Flüssigkeit enthaltenen zweiten Makromoleküle feststellen und/oder Information über deren Beschaffenheit erhalten.

[0012] Durch die Definition eines bevorzugten Aufenthaltsbereiches kann die Fläche auf dem Festkörper, der von der Flüssigkeit mit der zu analysierenden Makromolekulart bedeckt wird, begrenzt werden. Durch Auswahl einer entsprechenden Geometrie ist es möglich, das Probenvolumen sehr klein zu halten und dennoch zu gewährleisten, daß die zweiten Makromoleküle in der Flüssigkeit mit allen ersten

Makromolekülen, die in dem Microarray angeordnet sind, in Verbindung kommen. Durch die Auswahl eines bevorzugten Aufenthaltsbereiches durch Modulation der Benetzungsseigenschaften erübrigts es sich, die gesamte Chipoberfläche mit der Flüssigkeit zu überschwemmen.

[0013] Aufgrund der unterschiedlichen Benetzungsseigenschaften hält sich die Flüssigkeit mit den zu untersuchenden Makromolekülen nur auf dem bevorzugten Aufenthaltsbereich auf. Dazu sind keinerlei Kanäle oder Gruben notwendig, die die Bewegung der Flüssigkeit mit den zu untersuchenden Makromolekülen einschränken oder bremsen würden. Eine schnelle Verteilung auf dem bevorzugten Aufenthaltsbereich ist also möglich. Die Oberflächenspannung der Flüssigkeit bewirkt dabei aufgrund der unterschiedlichen

Benetzungseigenschaften, daß die Flüssigkeit den bevorzugten Aufenthaltsbereich ohne Einwirkung einer äußeren Kraft nicht verlassen kann.

[0014] Die unterschiedlichen Benetzungseigenschaften können z. B. durch eine entsprechende Beschichtung entweder des bevorzugten Aufenthaltsbereiches oder dessen Umgebung realisiert werden. Zum Beispiel können hydrophile bzw. hydrophobe Bereiche definiert werden. Sind die zu untersuchenden Makromoleküle in wässriger Lösung enthalten, wird der bevorzugte Aufenthaltsbereich z. B. so gewählt, daß er hydrophiler ist als die umgebende Festkörperoberfläche. Dies kann entweder durch eine hydrophile Beschichtung des bevorzugten Aufenthaltsbereiches oder durch eine hydrophobe Umgebung erreicht werden. Eine hydrophobe Umgebung kann z. B. durch eine silanierte Oberfläche realisiert werden. Je nach den Benetzungseigenschaften der Flüssigkeit, in der die zu untersuchenden Makromoleküle enthalten sind, kann die den Aufenthaltsbereich umgebende Festkörperoberfläche auch hydrophil, lipophob oder lipophil im Vergleich zur Oberfläche des bevorzugten Aufenthaltsbereiches gewählt werden.

[0015] Die Benetzungseigenschaften können weiterhin durch Mikrostrukturierung moduliert werden, wie es beim sogenannten Lotuseffekt der Fall ist, der auf der unterschiedlichen Rauigkeit der Oberfläche beruht. Die unterschiedliche Rauigkeit bewirkt dabei unterschiedliche Benetzungseigenschaften. Die Rauigkeit kann z. B. durch Mikrostrukturierung der entsprechenden Oberflächenbereiche erhalten werden, z. B. durch chemische Behandlung oder Ionenbestrahlung.

[0016] Die Herstellung von Bereichen unterschiedlicher Benetzungseigenschaften ist dabei Verwendung bereits bekannter lithographischer Verfahren und/oder Beschichtungstechnologien einfach und kostengünstig.

[0017] Da die erfundungsgemäße Vorrichtung keine mechanischen Begrenzungen, wie z. B. Kanäle, benötigt, ist es auch möglich, nur Teilbereiche des Microarrays mit Flüssigkeit zu beschicken. Eine solche Anwendung ist vorteilhaft, wenn nur eine spezielle Analyse notwendig ist, die nicht alle auf dem Microarray vorhandenen Makromoleküle einbeziehen muß.

[0018] Die Aufgabe wird auch durch ein erfundungsgemäßes Verfahren gemäß Anspruch 2 gelöst. Bei dieser Ausgestaltung wird ein Microarray eingesetzt, auf dem sich eine Vielzahl von zumindest teilweise unterschiedlichen ersten Makromolekülen in bekannter Anordnung befindet. Die Flüssigkeit mit der Vielzahl zweier Makromoleküle wird in den Bereich des Microarrays auf der Festkörperoberfläche gebracht. Zumindest eine Oberflächenwelle wird in Richtung der Flüssigkeit geschickt. Durch den Impulsübertrag auf die Flüssigkeit kann eine Verteilung und/oder Durchmischung der Flüssigkeit erreicht werden, so daß die zweiten Makromoleküle effektiv und schnell mit den ersten Makromolekülen in Kontakt kommen können. Ebenso wie bei der ersten Ausgestaltung wird daraufhin die Flüssigkeit aus dem Bereich des Microarrays weitgehend entfernt und ortsaufgelöst nachgewiesen, an welchen Stellen des Microarrays zweite Makromoleküle mit den ersten Makromolekülen eine Bindung eingegangen sind und deswegen auf der Festkörperoberfläche noch vorhanden sind.

[0019] Bei dieser Ausgestaltung des Verfahrens werden die Makromoleküle, die in der Flüssigkeit enthalten sind, mit Hilfe der Oberflächenwelle durchmischt und auf der Festkörperoberfläche wirksam verteilt. Auf diese Weise wird die Flüssigkeit quasi umgerührt. Lange Reaktionszeiten, wie sie bei konventionellen Verfahren notwendig sind, können somit reduziert werden, da die Bewegung der Moleküle nicht nur durch Diffusion erfolgt. Zudem kann bei dem

erfindungsgemäßen Verfahren gemäß der zweiten Ausgestaltung auf andere Transport- oder Mischvorrichtungen, wie mikromechanische oder piezoelektrisch angetriebene Pumpen, verzichtet werden.

5 [0020] Die Verteilung der Flüssigkeit und das Durchmischen erfolgen praktisch drucklos. Das Mischen der Flüssigkeit durch die Oberflächenwelle erzeugt homogene Reaktionsbedingungen, z. B. bezüglich der Temperatur, des pH-Wertes oder der Salzkonzentration, in dem gesamten von 10 der Oberflächenwelle überstrichenen Bereich.

[0021] Die Oberflächenwelle kann mit Hilfe mindestens einer Oberflächenwellenerzeugungseinrichtung generiert werden. Die Oberflächenwellen übertragen einen Impuls auf die Flüssigkeit mit den zu untersuchenden Makromolekülen. 15 Der Impulsübertrag wird entweder durch die mechanische Deformation der Festkörperoberfläche oder durch die Kraftwirkung der sie begleitenden elektrischen Felder auf geladene oder polarisierbare Materie erzielt.

[0022] Dabei kann die Stärke der Kraftwirkung auf die 20 Flüssigkeit in einem weiten Bereich über die Amplitude der Oberflächenwelle eingestellt werden. Die Oberflächenwelle kann pulsförmig mit Pulsen verschiedener Länge oder kontinuierlich erzeugt werden. Eine Ansteuerung der Oberflächenwellenerzeugungseinrichtung durch entsprechende 25 Software ist einfach möglich.

[0023] Oberflächenwellen lassen sich auf piezoelektrischen Substraten oder Substraten mit piezoelektrischen Bereichen, z. B. piezoelektrischen Beschichtungen, erzeugen. Dabei ist es ausreichend, wenn das Substrat bzw. die entsprechende Beschichtung nur in dem Bereich vorliegt, in 30 dem sich die Oberflächenwellenerzeugungseinrichtung befindet. Die Oberflächenschallwelle breitet sich dann auch außerhalb des piezoelektrischen Bereiches aus.

[0024] Zur Erzeugung der Oberflächenwelle wird vorteilhaft ein an sich bekannter Interdigitaltransducer eingesetzt. Ein solcher Interdigitaltransducer hat in einfacherster Ausführung zwei Elektroden, die fingerartig ineinander greifen. Durch Anlegen eines hochfrequenten Wechselfeldes, z. B. in der Größenordnung von einigen 100 MHz, wird in einem 40 piezoelektrischen Substrat bzw. in einem piezoelektrischen Bereich des Substrates eine Oberflächenwelle angeregt, deren Wellenlänge sich als Quotient aus der Oberflächenschallgeschwindigkeit und der Frequenz ergibt. Die Ausbreitungsrichtung ist senkrecht zu den ineinander greifenden

45 Fingerelektrodenstrukturen. Mit Hilfe eines solchen Interdigitaltransducers läßt sich auf sehr einfache Weise eine sehr definierte Oberflächenwelle erzeugen. Die Herstellung des Interdigitaltransducers ist mit bekannten lithographischen Verfahren und Beschichtungstechnologien kostengünstig 50 und einfach. Interdigitaltransducer können zudem, z. B. durch Einstrahlung eines elektromagnetischen Wechselfeldes in eine mit dem Interdigitaltransducer verbundene Antenneneinrichtung, drahtlos angesteuert werden.

[0025] Ein lateral begrenzter Schallpfad der Oberflächenwelle läßt sich bei einer vorteilhaften Ausgestaltung erreichen, wenn sich der Fingerabstand der Interdigitaltransducer zwischen den Elektroden verändert. Bei gegebener Frequenz wird die Resonanzbedingung, daß die Frequenz gleich dem Quotienten aus der Oberflächenschallgeschwindigkeit und dem Fingerabstand ist, nur in einem lateral räumlich begrenzten Bereich erfüllt. Mit einem solchen sogenannten getaperten Transducer kann also ein ausgewählter Bereich gezielt mit einer Oberflächenwelle beschallt werden.

60 [0026] Besonders vorteilhaft ist eine Kombination der Verfahren gemäß der Ansprüche 1 und 2.

[0027] Vorteilhafte Ausgestaltungen der erfundungsgemäßen Verfahren sind Gegenstand der Unteransprüche.

[0028] Die Geometrie des bevorzugten Aufenthaltsbereiches kann an die entsprechende Anwendung angepaßt werden. Zum Beispiel kann der bevorzugte Aufenthaltsbereich mäanderförmig durch das Microarray geführt werden, so daß die einzelnen Positionen des Microarrays sich entlang des bevorzugten Aufenthaltsbereiches aufreihen. Dabei ist sichergestellt, daß alle Analysepunkte mit der Flüssigkeit in Berührung kommen. Ebenso kann eine kreuzweise Anordnung vorgesehen sein, bei der sich die einzelnen Positionen des Microarrays in den Kreuzungsbereichen befinden. Bei einer einfachen Ausgestaltung ist das Microarray auf einem begrenzten Aufenthaltsbereich angeordnet, der die einzelnen Analysepunkte des Microarrays eng umschließt.

[0029] Die ortsaufgelöste Messung der nach dem Entfernen der Flüssigkeit auf der Festkörperoberfläche verbliebenen zweiten Makromoleküle, die also mit den ersten Makromolekülen hybridisiert haben, kann mit Hilfe einer Fluoreszenzmessung durchgeführt werden. Dazu müssen die zu analysierenden Makromoleküle mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert sein oder einen fluoreszierenden Bestandteil aufweisen.

[0030] Alternativ können zu analysierende Makromoleküle mit einer elektrisch aktiven Funktionsgruppe versehen werden oder eine solche umfassen. Die ortsaufgelöste Messung ist dann als elektrische Messung durchführbar.

[0031] Auch die Leitfähigkeit oder dielektrische Eigenschaften der zweiten Makromoleküle können zum Nachweis eingesetzt werden.

[0032] Ebenso können die zweiten Makromoleküle radioaktiv markiert sein, um die Lage der verbliebenen zweiten Makromoleküle nach dem weitgehenden Entfernen der Flüssigkeit feststellen zu können.

[0033] Eine andere Möglichkeit ergibt sich beim Einsatz sogenannter "Beads". Solche z. B. 10 µm große Massepartikel werden derart funktionalisiert, daß sie nur an bestimmten Makromolekülen haften. Nachträglich kann dann festgestellt werden, an welchen Stellen des Microarrays sich solche Beads befinden. So läßt sich eine Information über die Beschaffenheit und Art der Makromoleküle in dem Microarray selbst erhalten. Die Beads können z. B. als Massebelag an dem einzelnen Punkt des Microarrays festgestellt werden. Dabei kann z. B. ausgenutzt werden, daß eine Oberflächenschallwelle von einem Massebelag auf der Oberfläche gedämpft wird. Wird z. B. mit einem wie oben beschriebenen getaperten Interdigitaltransducer eine laterale begrenzte Oberflächenschallwelle über die Festkörperoberfläche geschickt, so daß sie nur einen oder wenige Punkte des Microarrays trifft, so kann über die Dämpfung dieser Oberflächewelle festgestellt werden, ob sich an diesen Stellen eine zusätzliche Masse in Form der Beads befindet oder nicht.

[0034] Das erfindungsgemäße Verfahren kann z. B. vorteilhaft zur Analyse von Oligonukleotiden eingesetzt werden. Unterschiedliche Oligonukleotide befinden sich in bekannter Anordnung auf dem Microarray. Die Flüssigkeit mit einem zu analysierenden Oligonukleotid wird auf das Microarray gebracht. Es wird ortsaufgelöst festgestellt, an welcher Stelle Oligonukleotide in der Flüssigkeit mit Oligonukleotiden in dem Microarray spezifisch gebunden bzw. hybridisiert haben. Das Verfahren eignet sich also besonders zum DNA-Screening, wobei die Oligonukleotide z. B. aus kurzen DNA-Strängen (Desoxyribonukleinsäuresträngen) bestehen. Ebenso können jedoch unterschiedliche Proteine, unterschiedliche Antigene oder unterschiedliche Antikörper im Microarray vorgesehen bzw. analysiert werden.

[0035] Bei einer vorteilhaften Weiterbildung der erfindungsgemäßen Verfahren wird nach dem Aufbringen der Flüssigkeit auf die Festkörperoberfläche zumindest eine

Oberflächenwelle über die Festkörperoberfläche geschickt. Aus der Stärke der Oberflächenwelle, die notwendig ist, die Bindung der Makromoleküle in dem Microarray mit den Makromolekülen in der Flüssigkeit aufzulösen, kann auf die Bindungsstärke geschlossen werden. Dabei kann sowohl die mechanische Deformation der Festkörperoberfläche, als auch die Kraft des die Deformation begleitenden elektrischen Feldes die Bindung lösen.

[0036] Mit zwei Oberflächenwellen, deren Schallpfade begrenzte Breite haben und aus verschiedenen Richtungen auf das Microarray treffen, kann ein einzelner Punkt zur Überprüfung der Bindungsstärke auf dem Microarray ausgewählt werden. Die Deformation des Festkörpers im Kreuzungspunkt der Oberflächenwellen ist am größten. Eine sich dort befindende Makromolekülbinding wird einer größeren Belastung ausgesetzt, als Bindungen in der Umgebung, in der sich die Oberflächenwellen nicht kreuzen.

[0037] Beispielsweise bei einer Fluoreszenzmessung der zweiten Makromoleküle wird die Oberflächenwellenamplitude erhöht und das Fluoreszenzsignal ortsaufgelöst gemessen. Bricht am Ort der Fluoreszenz die Bindung zwischen den ersten und zweiten Makromolekülen durch die erhöhte Amplitude auf, ändert sich dadurch das Fluoreszenzsignal.

[0038] Oberflächenwellen können z. B. auch zum Transport der Flüssigkeitsmenge in den Bereich des Microarrays bzw. zum Entfernen der Flüssigkeit von dem Microarray eingesetzt werden. Z. B. kann mit einer Oberflächenwelle aus einem Reservoir, das sich auf der Festkörperoberfläche befindet und z. B. durch einen Bereich gebildet wird, dessen Benetzungsseigenschaften so gewählt sind, daß sich die Flüssigkeit bevorzugt darauf aufhält, mit Hilfe einer Oberflächenwelle die Flüssigkeit in Richtung des Microarrays getrieben werden. Nach Abschluß des Experiments kann der Bereich des Microarrays mit einer Oberflächenwelle beschallt werden, so daß die Flüssigkeit, getrieben durch den Impulsübertrag der Oberflächenwelle, das Microarray wieder verläßt. Bei einer höheren Intensität der Oberflächenwelle ist es auch möglich, die Flüssigkeit vollständig von der gesamten Festkörperoberfläche zu entfernen.

[0039] Die Beschallung der Festkörperoberfläche mit der Oberflächenschallwelle bewirkt bei entsprechender Auswahl der Intensität zudem noch eine Reinigung der überstrichenen Bereiche.

[0040] Der Einsatz von Oberflächenwellen zur Durchmischung bzw. Verteilung der Flüssigkeit auf der Festkörperoberfläche vermeidet Totvolumina, die bei konventionellen Pumpenanordnungen entstehen. Es entfallen lange Zuleitungen und Ventile, die "freigepumpt" werden müßten. Mit Oberflächenwellen können auch bei kleinsten Flüssigkeitsmengen Turbulenzen über große Distanzen hinweg erzeugt werden. Auf diese Weise wird die durchschnittliche Geschwindigkeit der zu untersuchenden Makromoleküle erhöht und somit die Reaktionszeit verringert. Oberflächenwellen können also vorteilhaft zur Aufbringung und Durchmischung von Proben-Substanzen eingesetzt werden, um die Reaktionszeit in einem sonst diffusionsbestimmten Prozeß zu beschleunigen.

[0041] Mit einer Flüssigkeit mit bekannten zweiten Makromolekülen kann in analoger Weise die Art der ggf. unbekannten ersten Makromoleküle auf dem Microarray bestimmt bzw. charakterisiert werden.

[0042] Bei einem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung eines Microarrays wird eine Flüssigkeit mit zumindest einer Art Makromolekül auf einen Bereich einer Festkörperoberfläche aufgebracht, dessen Benetzungsseigenschaften sich von der umgebenden Festkörperoberfläche derart unterscheiden, daß sich die Flüssigkeit bevorzugt darauftaufhält. Die Makromoleküle sind mit einem lichtaktiven

Inhibitor abgeschlossen, der eine Bindung mit der Oberfläche verbindet. Wiederum kann die Flüssigkeit aufgrund der Oberflächenspannung und der Benetzungseigenschaften den bevorzugten Bereich der Oberfläche ohne Einwirkung einer äußeren Kraft nicht verlassen. Die Flüssigkeit ist also bereits lokalisiert, ohne daß die gesamte Festkörperoberfläche mit der Flüssigkeit überschwemmt werden müßte. Auf diese Weise wird die notwendige Menge an Reagenz verringert. [0043] Ein Unterbereich des bevorzugten Aufenthaltsbereiches wird lokal beleuchtet, um den Inhibitor der Makromoleküle in dem beleuchteten Bereich zu lösen. Die Makromoleküle in dem beleuchteten Unterbereich können jetzt gebunden werden und werden an den beleuchteten Stellen im bevorzugten Aufenthaltsbereich gebunden. Man kann auf diese Weise genau festlegen, an welcher Stelle des Aufenthaltsbereiches sich das Makromolekül befinden soll.

[0044] Gegebenenfalls werden diese Schritte mit einem oder mehreren unterschiedlichen Arten von Makromolekülen wiederholt, um verschiedene Makromoleküle an definierten und bekannten Stellen des bevorzugten Aufenthaltsbereiches zu immobilisieren. Durch die Festlegung eines bevorzugten Aufenthaltsbereiches durch Auswahl seiner Benetzungseigenschaften werden dabei Kanäle, Kanten, Gräben oder andere mechanische Hemmnisse vermieden. Die Flüssigkeit kann sich vor der Bindung in dem bevorzugten Aufenthaltsbereich frei bewegen.

[0045] Zum Flüssigkeitstransport und zur Durchmischung beim Aufbau des Microarrays aus ersten Makromolekülen für die photoinduzierte Synthese, z. B. für die Synthese von DNA, können ebenfalls Oberflächenwellen vorteilhaft eingesetzt werden. Der Flüssigkeitstransport ist nicht mehr diffusionsbestimmt und eine homogene Verteilung der Flüssigkeit gewährleistet. Andere Vorteile ergeben sich in analoger Weise wie beim oben beschriebenen Analyseverfahren.

[0046] Ausgestaltungen der erfundungsgemäßen Verfahren werden anhand der anliegenden nicht maßstabsgetreuen Figuren im Detail erläutert. Dabei zeigt:

[0047] Fig. 1 eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Durchführung eines erfundungsgemäßen Verfahrens,

[0048] Fig. 2 eine weitere Vorrichtung zur Durchführung eines erfundungsgemäßen Verfahrens, in schematischer Darstellung,

[0049] Fig. 3 eine dritte Vorrichtung zur Durchführung eines erfundungsgemäßen Verfahrens, in schematischer Darstellung,

[0050] Fig. 4 eine vierte Vorrichtung zur Durchführung eines erfundungsgemäßen Verfahrens, in schematischer Darstellung, und

[0051] Fig. 5a bzw. b vergrößerte Ausschnitte der in Fig. 1 bzw. Fig. 4 gezeigten Vorrichtungen.

[0052] Die Darstellung der Figuren ist so zu verstehen, daß sie ggf. nur einen Teil eines größeren Systems zeigen, in dem sich noch weitere Analyse- bzw. Synthesevorrichtungen der erfundungsgemäßen oder anderer Art befinden.

[0053] In Fig. 1 bezeichnet 1 einen Festkörper, z. B. aus piezoelektrischem Material wie Quarz oder LiNbO<sub>3</sub>. Alternativ kann ein Festkörper vorgesehen sein, der zumindest eine teilweise piezoelektrische Oberfläche, z. B. aus ZnO aufweist. 1 kann dabei ein Ausschnitt aus einer größeren Chipeinheit sein.

[0054] Auf der Festkörperoberfläche befindet sich ein bevorzugter Aufenthaltsbereich 3, der andere Benetzungseigenschaften als die umgebende Festkörperoberfläche hat. Die Oberfläche des Bereiches 3 ist derart gewählt, daß die Flüssigkeit, in der sich das zu untersuchende Material befindet, bevorzugt darauf aufhält. Bei einer wässrigen Lösung ist die Oberfläche in dem bevorzugten Oberflächenbereich 3

z. B. hydrophil im Vergleich zu der hydrophoberen Oberfläche des umgebenden Festkörpers gewählt. Dazu kann z. B. die restliche Festkörperoberfläche silanisiert oder mikrostrukturiert und dadurch hydrophob sein.

5 [0055] 5 bezeichnet beispielhaft eine Position für eine Art von Makromolekülen, die sich auf dem Aufenthaltsbereich 3 befinden. Es können auch sehr viel mehr Positionen 5 vorgesehen sein. 15 bezeichnet eine Zuführung auf dem Festkörper 1, die dieselben Oberflächeneigenschaften besitzt, 10 wie der bevorzugte Aufenthaltsbereich 3, 16 bezeichnet einen entsprechenden Abfluß. Selbstverständlich können Zu- und Abfluß auch vertauscht sein. 15 und 16 führen in hier nicht weiter ausgeführter Weise z. B. zu Reservoirs oder anderen Analysestationen.

15 [0056] Fig. 5a zeigt vergrößert einen Teil des Bereiches 3. Von den Positionen 5 sind nur einige angedeutet.

[0057] 7 bezeichnet einen Interdigitaltransducer, der als Oberflächenwellenerzeugungseinrichtung dient. Der Interdigitaltransducer 7 besteht aus zwei Elektroden 9 und 11 mit fingerartigen Fortsätzen 13, die ineinander greifen. Bei Anlegen eines Wechselfeldes an die Elektroden des Transducers wird eine Oberflächenwelle mit einer Wellenlänge erzeugt, die dem Fingerabstand der Elektroden entspricht. Die Ausbreitungsrichtung ist senkrecht zu den ineinander greifenden Fingern in Richtung 8. Der Transducer umfaßt eine große Anzahl von ineinander greifenden Fingern, von denen nur einige schematisch und nicht maßstabsgetreu dargestellt sind.

[0058] Durch Wahl der Kristallorientierung und/oder der 30 Geometrie der Interdigitaltransducer können dabei verschiedene Wellentypen, wie z. B. Rayleigh-Wellen oder Scherwellen erzeugt werden. Der Interdigitaltransducer 7 wird z. B. mit Hilfe lithographischer Verfahren und Beschichtungsverfahren auf der Chipoberfläche erzeugt.

[0059] Selbstverständlich können in nicht gezeigter Weise mehrere Transducer, ggf. mit unterschiedlicher Abstrahlrichtung, um das Microarray angeordnet sein.

[0060] Eine solche erfundungsgemäße Vorrichtung kann wie folgt eingesetzt werden. Als Beispiel für die Makromoleküle werden im folgenden Oligonukleotide beschrieben. Bei dem erfundungsgemäßen Microarray bringt man verschiedene DNA-Stränge "A1", "A2", "A3...", sogenannte Oligonukleotide, auf die einzelnen Positionen 5 des Microarrays (siehe z. B. Fig. 5a). Die Art des Strangs, gegeben durch die Abfolge der Basen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin, ist dabei bekannt und wird durch die Position in der Matrix gegeben. Typische Abstände zwischen verschiedenartigen Oligonukleotiden betragen dabei etwa 100 µm und die Stränge sind typischerweise 10 bis 100 Basenpaare lang. Die zu identifizierende Oligonukleotidprobe (im folgenden beispielsweise "a1") wird mit einem Fluoreszenzfarbstoff oder auch mit einer elektrisch aktiven Funktionsgruppe markiert und in einer Flüssigkeit gelöst über die Zuführung 15 auf das Array gebracht. Die Benetzungseigenschaften der Zuführung 15 sind so gewählt, daß die Flüssigkeit diesen Bereich 15 nicht seitlich verläßt.

[0061] Die Flüssigkeit verteilt sich auf dem bevorzugten Aufenthaltsbereich 3. Nachdem die Flüssigkeit sich auf dem Bereich 3 befindet, wird eine Oberflächenwelle in Richtung 6 mit Hilfe des Interdigitaltransducers 7 erzeugt. Dazu wird an die Elektroden 9, 11 z. B. mit Hilfe von Kontaktdrähten ein Wechselfeld von einigen Megahertz angelegt. Alternativ kann ein Wechselfeld in eine mit den Elektroden verbundene Antennenvorrichtung eingestrahlt werden. Die Oberflächenwelle breitet sich in Richtung 8 aus und fördert durch den Impulsübertrag auf die Flüssigkeit deren Durchmischung und Verteilung auf der bevorzugten Aufenthaltsfläche 3. Auf diese Weise ist sichergestellt, daß die Flüssigkeit

65

sich über den gesamten Bereich 3 bewegt und mit allen Analysepunkten 5 des Microarrays in Verbindung kommt.

[0062] Auch für die Bewegung entlang der Zuführung 15 kann eine Oberflächenwelle eingesetzt werden, die von einem auf dem Ausschnitt der Fig. 1 nicht sichtbaren Interdigitaltransducer erzeugt wird. In jedem Fall werden die Amplituden der Oberflächenwellen so gewählt, daß die Flüssigkeit den bevorzugten Bereich 3, 15, 16 nicht verläßt.

[0063] Ist ein zu der Probe komplementäres "Fänger-Oligonukleotid "A1" auf einer der Positionen 5 in dem Array vorhanden, so kommt es zur Hybridisierung zwischen den komplementären Oligonukleotiden "a1" und "A1".

[0064] Im Anschluß wird die Probenlösung wiederum durch Einwirkung einer Oberflächenwelle in Richtung 8 durch die Abführung 16 von dem Array gespült. Der elektrisch aktive oder fluoreszierende Marker ist nur noch dort vorhanden, wo das Probenoligonukleotid "a1" mit einem Fängeroligonukleotid hybridisiert hat. Die Fluoreszenz bzw. das elektrische Signal wird nun ortsaufgelöst gemessen. Aus der Lage des Signales wird festgestellt, mit welchem der auf dem Microarray befindlichen DNA-Stränge das Probenoligonukleotid "a1" hybridisiert hat. Somit läßt sich das Probenoligonukleotid "a1" identifizieren.

[0065] Durch den begrenzten Aufenthaltsbereich 3 wird das Probenoligonukleotid effektiv an die Fängeroligonukleotide auf den Punkten 5 des Microarrays gebracht. Durch die zusätzliche Durchmischung und Verteilung werden die Reaktionszeiten signifikant verringert.

[0066] Die verschiedenartigen DNA-Stränge "A1", "A2", "A3" ... können auf die Matrixform des Microarrays z. B. mit einem Pipettierroboter aufgebracht werden.

[0067] Bei einem besonders vorteilhaften Verfahren werden diese sogenannten Fänger-Oligonukleotide auf dem Microarray selbst durch fotoinduzierte Synthesierung hergestellt. Die einzelnen Basen zur Oligonukleotidsynthesierung sind dabei jeweils mit einem lichtaktiven Inhibitor abgeschlossen. Das Oligonukleotid kann nur an den Stellen verlängert werden, auf die Licht fällt. Eine gelöste Base, z. B. Guanin, wird auf den bevorzugten Aufenthaltsbereich 3 aufgebracht. Ein Lichtstrahl löst lokal die Inhibitoren an einem Ort 5, an denen das Guanin andocken soll. Nach einer bestimmten Wartezeit hat die Reaktion an den vorbezeichneten Stellen stattgefunden. Diese Reaktion kann ebenfalls durch Mischen mit einer Oberflächenwelle mit Hilfe des Interdigitaltransducers 7 beschleunigt werden. Nach der Reaktion wird die Flüssigkeit mit dem Guanin wieder von dem Array entfernt. Nun kann der gleiche Schritt mit einer anderen Base, z. B. Cytosin, wiederholt werden. Auf diese Weise wird ein Microarray erzeugt, bei dem sich an den einzelnen Stellen verschiedene DNA-Stränge befinden.

[0068] Fig. 2 zeigt eine andere Ausführungsform, mit der das erfundungsgemäße Verfahren durchgeführt werden kann. Wiederum ist ein Ausschnitt aus einer Chipoberfläche gezeigt. Hier ist der bevorzugte Aufenthaltsbereich 30 kreuzförmig angeordnet und wiederum schraffiert dargestellt. An den Kreuzungspunkten befinden sich die Analysepunkte 5. Ein zweiter Interdigitaltransducer 19 mit einer Abstrahlrichtung senkrecht zur Abstrahlrichtung 8 des ersten Interdigitaltransducers 7 ist an einer Seite des Microarrays vorgesehen. Mit Hilfe eines solchen zweiten Interdigitaltransducers 19 kann die Durchmischung bzw. Verteilung der Flüssigkeit mit dem Probenoligonukleotid "a1" noch stärker gefördert werden. Selbstverständlich können auch auf den verbleibenden Seiten des Microarrays entsprechende Interdigitaltransducer vorgesehen sein.

[0069] Die Flüssigkeit kann auf die Zuführung 17 gebracht werden. Sobald sie den Bereich 18 erreicht hat, kann sie mit Hilfe des Interdigitaltransducers 19, der eine Ab-

strahlrichtung in Richtung entlang der Zuführung 18 hat, angetrieben werden. Eventuell nachfolgende Flüssigkeit auf dem Bereich 17 wird aufgrund der Oberflächenspannung mitgezogen.

[0070] So gelangt die Flüssigkeitsmenge auf den bevorzugten Aufenthaltsbereich 30. Dort kann die Flüssigkeit mit Hilfe der Interdigitaltransducer 7 und 19 effektiv verteilt und durchmischt werden. Der Interdigitaltransducer 7 sorgt für eine Bewegungskomponente in waagerechter Richtung der Fig. 2, während der Interdigitaltransducer 19 für eine Bewegungskomponente senkrecht in der Darstellung der Fig. 2 sorgt. So läßt sich auf einfache und schnelle Art und Weise eine optimale Verteilung der Flüssigkeit mit einem Probennukleotid auf dem Microarray der Fig. 2 erreichen.

[0071] Nach Abschluß des Experiments wird die Flüssigkeitsmenge über die Abführung 16 mit Hilfe einer Oberflächenwelle, die mit dem Interdigitaltransducer 7 erzeugt wird, über die Abführung 16 z. B. in ein nicht gezeigtes Reservoir geführt, das sich ebenfalls auf der Chipoberfläche befinden kann. Die Zu- bzw. Abführungen 16, 17 und 18 in Fig. 2 sind ebenso funktionalisiert wie der bevorzugte Aufenthaltsbereich 30.

[0072] Analog wie bei der Ausführungsform der Fig. 1 kann bei der Ausführungsform der Fig. 2 auch die Aufbringung der ersten Makromoleküle durchgeführt werden. Die kreuzweise Anordnung des Aufenthaltsbereiches 30 bei der Ausführungsform der Fig. 2 verringert die Flüssigkeitsmenge, die notwendig ist, um das Probennukleotid wirksam in den Bereich aller Fängernukleotide "A1", "A2", "A3" ... zu bringen.

[0073] In Fig. 3 ist eine andere Ausgestaltung wiederum als Ausschnitt aus einer Chipoberfläche gezeigt. Hier sind die Interdigitaltransducer 21, 23 und 31 als sogenannte "getaperte" Interdigitaltransducer ausgestaltet. Der Interdigitaltransducer 21 umfaßt Elektroden 25 und 27 mit fingerartigen Fortsätzen 29. Der Abstand dieser Finger ist entlang der Verbindungsachse zwischen den Elektroden 25 und 27 nicht konstant. Der Fingerabstand bestimmt die Wellenlänge der abgestrahlten Oberflächenwelle. Bei konstanter Oberflächenwellenschallgeschwindigkeit ist bei einer bestimmten angelegten Frequenz also nur für einen bestimmten Fingerabstand die Resonanzbedingung erfüllt, daß sich die Frequenz der Oberflächenwelle als Quotient aus der Oberflächenwellenschallgeschwindigkeit und der Wellenlänge ergibt. Auf seitliche Ausdehnung senkrecht zur Ausbreitungsrichtung und eine definierte Position entlang der Achse des Transducers hat.

[0074] Die Interdigitaltransducer 23 und 31 sind analog aufgebaut, wobei der Interdigitaltransducer 23 eine Ausbreitungsrichtung der Oberflächenwelle entgegen der Ausbreitungsrichtung einer Oberflächenwelle des Interdigitaltransducers 21 aufweist. Der Interdigitaltransducer 31 hat eine Ausbreitungsrichtung senkrecht dazu. Auch hier können natürlich zusätzliche Interdigitaltransducer vorgesehen sein, z. B. ein Interdigitaltransducer mit einer Ausbreitungsrichtung entgegen einer Ausbreitungsrichtung des Interdigitaltransducers 31.

[0075] Beispielhaft ist eine Oberflächenwelle, die mit dem Interdigitaltransducer 21 erzeugt wird, mit der Ausbreitungsrichtung 51 gezeigt. 52 bezeichnet die Ausbreitungsrichtung einer Oberflächenwelle, die mit dem Interdigitaltransducer 31 erzeugt werden kann. Durch Wahl der Frequenz der an den beiden Interdigitaltransducern anliegenden Oberflächenwelle kann der Analysepunkt 50 ausgewählt werden, an dem die maximale Intensität anliegt.

[0076] Eine solche Vorrichtung läßt sich wie folgt vorteilhaft einsetzen.

[0077] Zunächst wird wiederum eine Flüssigkeit z. B. mit

dem Probenoligonukleotid "a1" über die Zuführung 15 auf den bevorzugten Aufenthaltsbereich 3 aufgebracht, auf dem sich verschiedene Fängeroligonukleotide "A1", "A2", "A3" ... wie in Fig. 5b angedeutet befinden. Durch Einstrahlen einer Oberflächenwelle wird die Durchmischung und Verteilung der Flüssigkeit mit dem Probenoligonukleotid "a1" auf dem bevorzugten Bereich 3 beschleunigt. Nach der Reaktionszeit wird die Flüssigkeit wiederum von der Oberfläche weitgehend weggewaschen und nur an den Stellen, an denen das Probenoligonukleotid "a1" mit einem Fängeroligonukleotid "A1" auf dem Microarray hybridisiert, verbleibt das Probenoligonukleotid "a1". Die Oberflächenwelle wird dabei entlang der Verbindungsline zwischen den Elektroden 25 und 27 durch Einsatz verschiedener Frequenzen verschoben.

[0078] Eine ortsaufgelöste Messung erlaubt die Feststellung, an welchen der Makromoleküle das Probennukleotid "a1" hybridisiert hat. Dazu kann z. B. wieder eine Fluoreszenzmessung durchgeführt werden, wie oben bereits beschrieben.

[0079] Mit Hilfe des getaperten Interdigitaltransducers 21 kann nun eine Oberflächenwelle erzeugt werden, die genau auf den Analysepunkt 50 trifft, an der sich das Oligonukleotid "a1" nach der Hybridisierung befindet. Durch Einstrahlen einer Oberflächenwelle mit entgegengesetzter Ausbreitungsrichtung aber gleicher Frequenz läßt sich mit Hilfe des Interdigitaltransducers 23 an dem Ort des Probenoligonukleotides "a1" ein dynamisches Potential erzeugen. Je stärker die Oberflächenwellen sind, desto stärker ist der Impulsübertrag. Ab einer gewissen Stärke des dynamischen Potentiales wird die Bindung zwischen "a1" und dem korrespondierenden Fängeroligonukleotid "A1" aufgebrochen und das fluoreszierende Oligonukleotid "a1" verläßt den Ort in dem Microarray. Auf diese Weise läßt sich die Bindungsstärke des Probenoligonukleotides "a1" an der entsprechenden Stelle des Microarrays überprüfen. Der Kraftübertrag auf die Bindung kann mit Hilfe der Oberflächenwellen sowohl mechanisch als auch elektrisch durch die die Deformation der Festkörperoberfläche begleitenden elektrischen Felder erzeugt werden. Um einen bestimmten Analysepunkt 50 auszuwählen, können wie oben beschrieben zwei Interdigitaltransducer 21 bzw. 31 mit zueinander senkrecht stehenden Ausbreitungsrichtungen 51 bzw. 52 eingesetzt werden.

[0080] Aus der so charakterisierten Bindungsstärke kann man z. B. feststellen, ob das Probenoligonukleotid und das Fängeroligonukleotid 19 komplementäre Basenpaare besitzen oder 20.

[0081] Nach Abschluß des Experiments kann der Interdigitaltransducer 31 zur Erzeugung einer Oberflächenwelle eingesetzt werden, mit der die Flüssigkeit über den Zuleitungs- bzw. Abführungskanal 15 von dem Analysebereich 3 weggetrieben wird.

[0082] Bei einer Ausführungsform der Fig. 4 ist der Aufenthaltsbereich 300 mäanderförmig gestaltet, wobei sich die Fängeroligonukleotide entlang dieses mäanderförmigen Bereiches aufreihen. Fig. 5b zeigt einen Ausschnitt des Bereiches 300. Von den Positionen 5 sind wiederum nur einige beispielhaft gezeigt. Mit Hilfe des Interdigitaltransducers 7 kann die Flüssigkeitsmenge entlang dieses mäanderförmigen Aufenthaltsbereiches getrieben werden, so daß sicher gestellt ist, daß die Probennukleotide in der Flüssigkeit in große Nähe zu den Fängeroligonukleotiden kommen. Zur Unterstützung der Bewegung entlang des mäanderförmigen Aufenthaltsbereiches 300 können noch andere, nicht gezeigte Interdigitaltransducer vorgesehen sein.

[0083] Selbstverständlich lassen sich die verschiedenen Geometrien, wie sie beispielhaft in den Fig. 1 bis 4 gezeigt sind, auch kombinieren. Schließlich können in jeder der Ausgestaltungen zusätzliche Interdigitaltransducer zur Ver-

stärkung der erfundungsgemäßen Wirkungen eingesetzt werden.

[0084] Jede der einzelnen Vorrichtungen kann Teil eines größeren Komplexes auf einer Festkörperoberfläche sein, 5 auf der sich mehrere Analysestationen und/oder Reservoir für Flüssigkeiten befinden, um ein Netzwerk oder ein sogenanntes "Lab on the chip" zu realisieren.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur Analyse von Makromolekülen mit Hilfe eines Microarrays, auf dem sich eine Vielzahl von ersten zumindest teilweise unterschiedlichen Makromolekülen in bekannter Anordnung befindet, wobei das Microarray auf einer Festkörperoberfläche (1) angeordnet ist, auf der ein Bereich (3, 30, 300) definiert ist, dessen Benetzungseigenschaften sich von der umgebenden Festkörperoberfläche derart unterscheiden, daß sich eine Flüssigkeit mit einer Vielzahl von zweiten Makromolekülen bevorzugt darauf aufhält, und der Bereich (3, 30, 300) das Microarray umfaßt, bei dem die Flüssigkeit mit der Vielzahl zweiter Makromoleküle auf den so definierten bevorzugten Aufenthaltsbereich (3, 30, 300) der Festkörperoberfläche gebracht wird, um eine Reaktion der zweiten Makromoleküle mit den ersten Makromolekülen zu ermöglichen,

die Flüssigkeit von dem bevorzugten Aufenthaltsbereich (3, 30, 300) zumindest weitgehend wieder entfernt wird, und  
ortsaufgelöst die nach dem Entfernungsprozeß verbliebenen zweiten Makromoleküle nachgewiesen werden, wobei aus der Lage dieser verbliebenen zweiten Makromoleküle festgestellt wird, welche der ersten Makromoleküle mit Makromolekülen der zweiten Vielzahl von Makromolekülen eine Bindung eingegangen sind, um so die Art bzw. die Arten der in der Flüssigkeit enthaltenen zweiten Makromoleküle festzustellen und/oder Information über deren Beschaffenheit zu erhalten.

2. Verfahren zur Analyse von Makromolekülen, insbesondere nach Anspruch 1, mit Hilfe eines Microarrays, auf dem sich eine Vielzahl von zumindest teilweise unterschiedlichen ersten Makromolekülen in bekannter Anordnung befindet, bei dem eine Flüssigkeit mit einer Vielzahl zweiter Makromoleküle auf die Festkörperoberfläche gebracht wird, zumindest eine Oberflächenwelle in Richtung (8, 51, 52) der Flüssigkeit geschickt wird, die durch Impulsübertrag auf die Flüssigkeit zur gezielten Verteilung auf der Festkörperoberfläche und/oder Durchmischung der Flüssigkeit führt,

die Flüssigkeit aus dem Bereich des Microarrays zumindest weitgehend wieder entfernt wird, und  
ortsaufgelöst die nach dem Entfernungsprozeß verbliebenen zweiten Makromoleküle nachgewiesen werden, wobei aus der Lage dieser verbliebenen Makromoleküle festgestellt wird, welche der ersten Makromoleküle mit den Makromolekülen der zweiten Vielzahl von Makromolekülen eine Bindung eingegangen sind, um so die Art bzw. die Arten der in der Flüssigkeit enthaltenen zweiten Makromoleküle festzustellen und/oder Information über deren Beschaffenheit zu erhalten.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, bei dem die zu analysierenden zweiten Makromoleküle mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert sind oder einen fluoreszierenden Bestandteil aufweisen und die ortsaufgelöste Messung eine Fluoreszenzmessung umfaßt.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei dem die zu analysierenden zweiten Makromoleküle eine elektrisch aktive Funktionsgruppe umfassen oder mit einer solchen markiert sind und die ortsaufgelöste Messung eine elektrische Messung umfaßt. 5

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei dem die zu analysierenden zweiten Makromoleküle zur ortsaufgelösten Messung radioaktiv markiert sind. 10

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, bei dem die Vielzahl erster Makromoleküle unterschiedliche Oligonukleotide und/oder unterschiedliche Proteine und/oder unterschiedliche Antigene und/oder unterschiedliche Antikörper umfaßt, deren Lage auf dem Microarray bekannt ist. 15

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, bei dem entweder bevor bzw. nachdem die Flüssigkeit von der Flüssigkeitsoberfläche (1) entfernt wird bzw. wurde, zumindest eine Oberflächenwelle über die Festkörperoberfläche (1) geschickt wird um Information über die Stärke der Bindung des oder der nach dem Entfernungsprozeß verbliebenen zweiten Makromoleküle mit den ersten Makromolekülen zu erhalten. 20

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, bei dem die Festkörperoberfläche (1) mit einer Oberflächenwelle beschallt wird, um die Flüssigkeit in den Bereich des Microarrays zu bringen und/oder davon zu entfernen. 25

9. Verfahren zur Herstellung eines Microarrays, das in einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8 verwendet werden kann, bei dem 30

- a) eine Flüssigkeit mit zumindest einer Art Makromoleküle auf einen Bereich (3, 30, 300) einer Festkörperoberfläche aufgebracht wird, dessen Benetzungseigenschaften sich von der umgebenden Festkörperoberfläche derart unterscheiden, 35 daß sich die Flüssigkeit bevorzugt darauf aufhält, und die Makromoleküle mit einem lichtaktiven Inhibitor abgeschlossen sind, der eine Bindung mit der Oberfläche verhindert,
- b) ein Unterbereich (5, 50) des bevorzugten Aufenthaltsbereiches (3, 30) lokal beleuchtet wird, um den Inhibitor der Makromoleküle in dem beleuchteten Bereich zu lösen, so daß Makromoleküle in dem Unterbereich (5, 50) des bevorzugten Aufenthaltsbereiches (3, 30, 300) gebunden werden, und 40
- c) gegebenenfalls die Schritte a) und b) mit einem oder mehreren unterschiedlichen Arten von Makromolekülen wiederholt werden, wobei die lokale Beleuchtung jeweils ggf. auch an anderer 45 Stelle durchgeführt wird.

10. Verfahren nach Anspruch 9, bei dem die Flüssigkeit mit einer Oberflächenwelle beschallt wird, um die Verteilung auf den bevorzugten Aufenthaltsbereich (3, 30, 300) und/oder eine Reaktion zu fördern. 55

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 oder 10, bei dem Oligonukleotide als erste Makromoleküle auf dem Microarray aufgebaut werden. 60

12. Verwendung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur Analyse von Oligonukleotiden als zweite Makromoleküle. 65

13. Analysevorrichtung für Makromoleküle zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch 2, insoweit er von Anspruch 1 abhängig ist, bzw. eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 3 bis 8, insoweit er direkt oder indirekt von den Ansprüchen 1 und 2 abhängig ist, mit einem bevorzugten Aufenthaltsbereich (3, 30, 300) auf einer Festkörperoberfläche (1), der an-

dere Benetzungseigenschaften aufweist, als die umgebende Festkörperoberfläche, und zumindest einer Oberflächenwellenerzeugungseinrichtung (7, 19, 21, 23) zur Abstrahlung einer Oberflächenwelle in Richtung (8, 51, 52) des bevorzugten Aufenthaltsbereiches (3, 30, 300).

14. Analysevorrichtung für Makromoleküle nach Anspruch 13, bei der der bevorzugte Aufenthaltsbereich (300) mäanderförmig auf der Festkörperoberfläche (1) angeordnet ist.

15. Analysevorrichtung für Makromoleküle nach Anspruch 13, bei der der bevorzugte Aufenthaltsbereich (30) kreuzförmig auf der Festkörperoberfläche (1) angeordnet ist.

---

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

---

Fig. 1

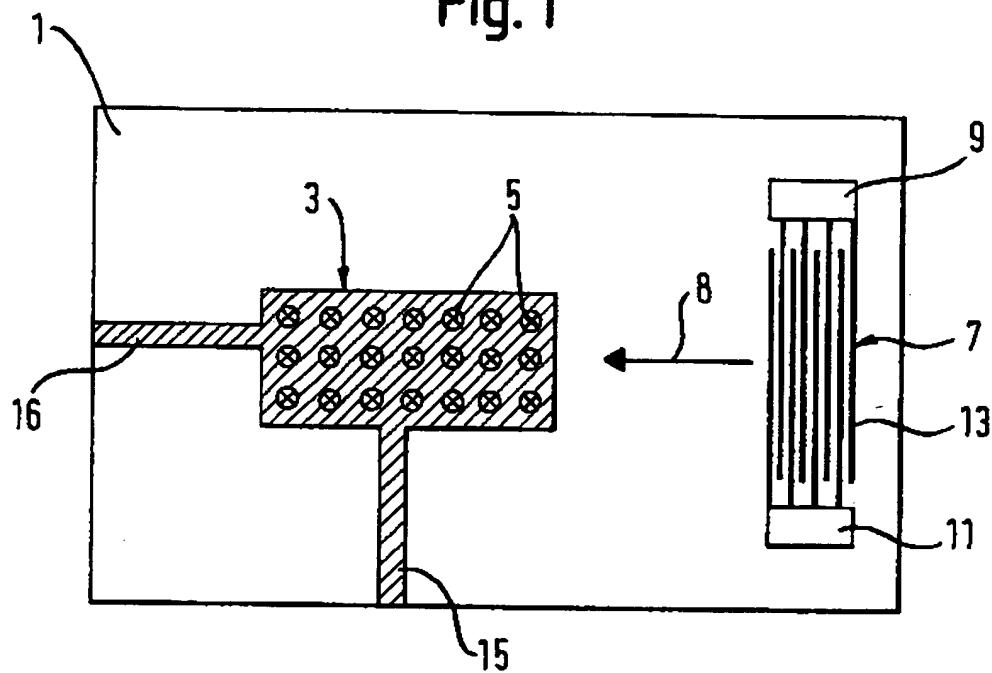


Fig. 5a

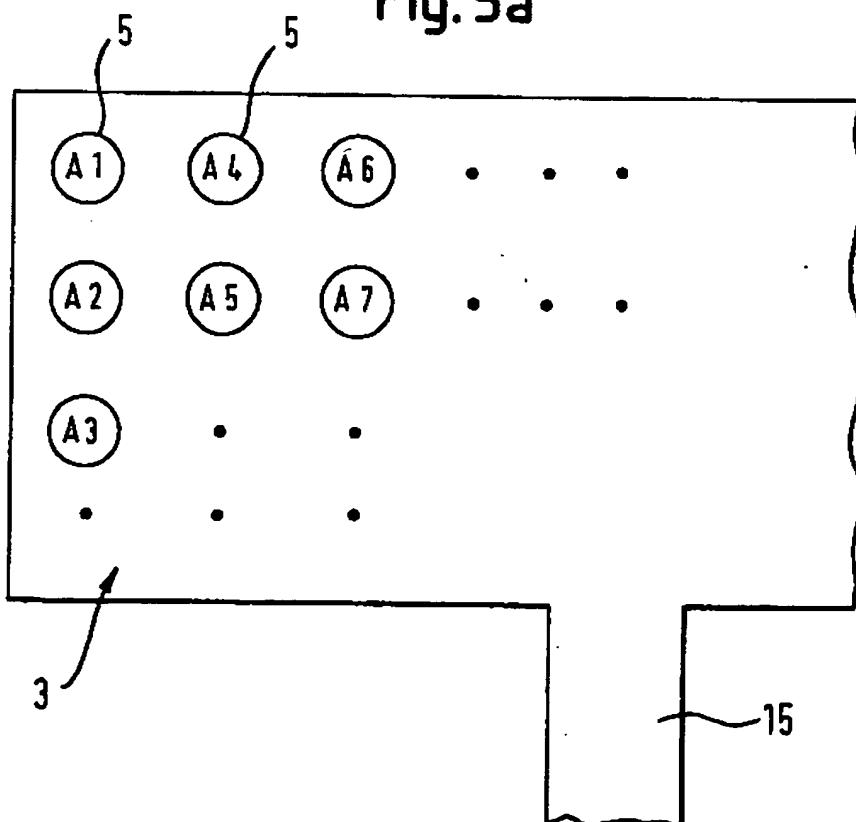


Fig. 2

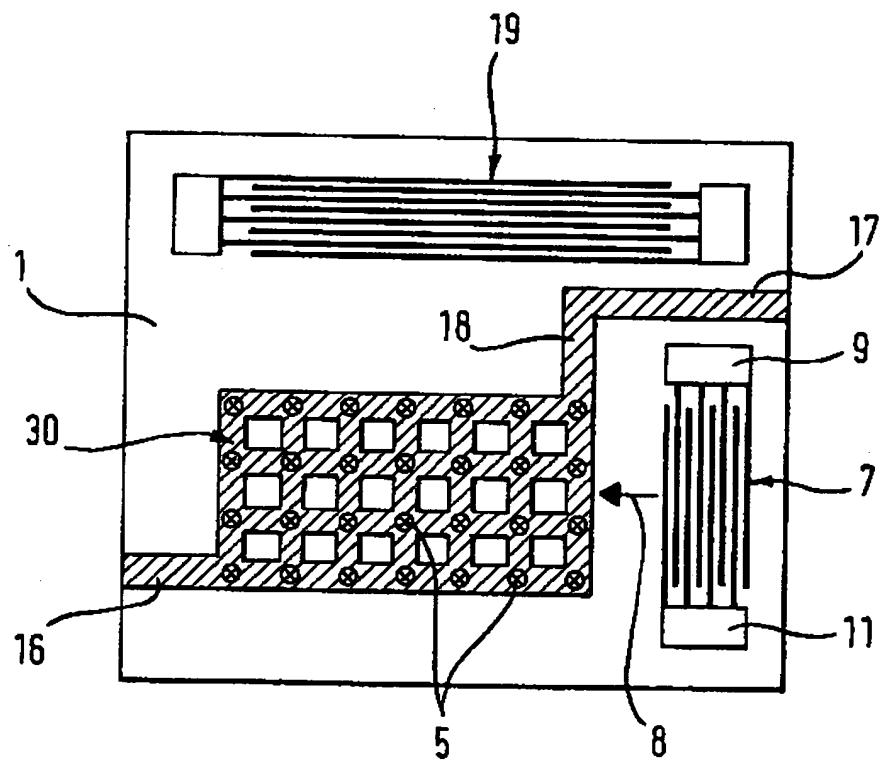


Fig. 3

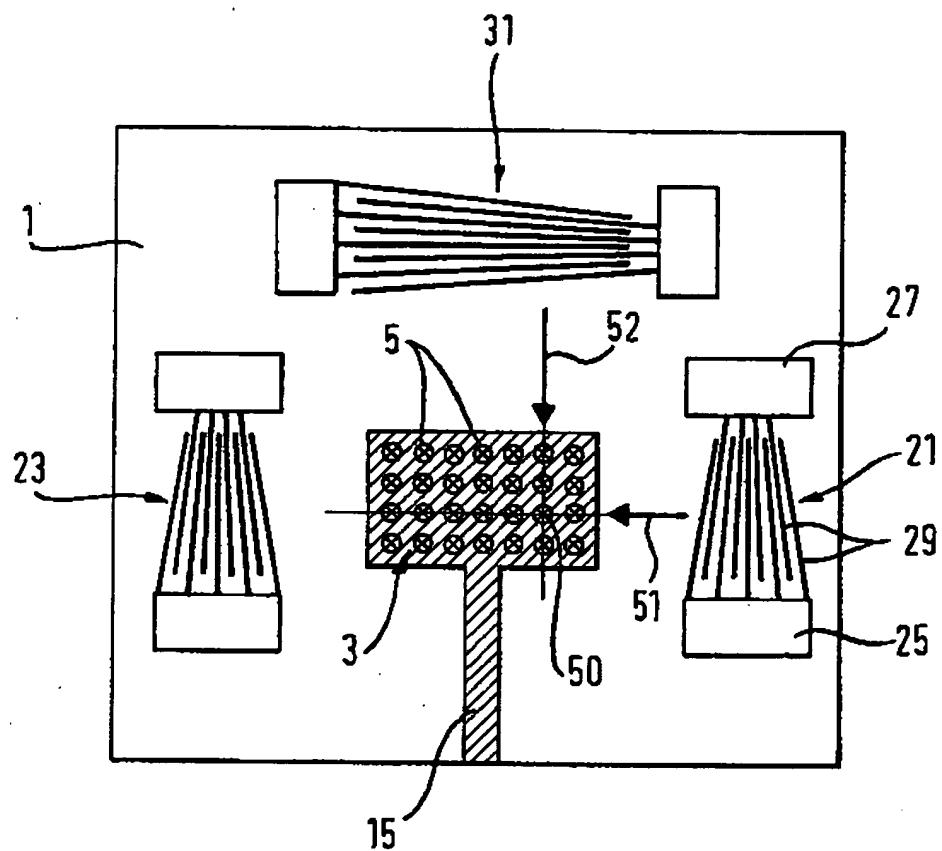


Fig. 4

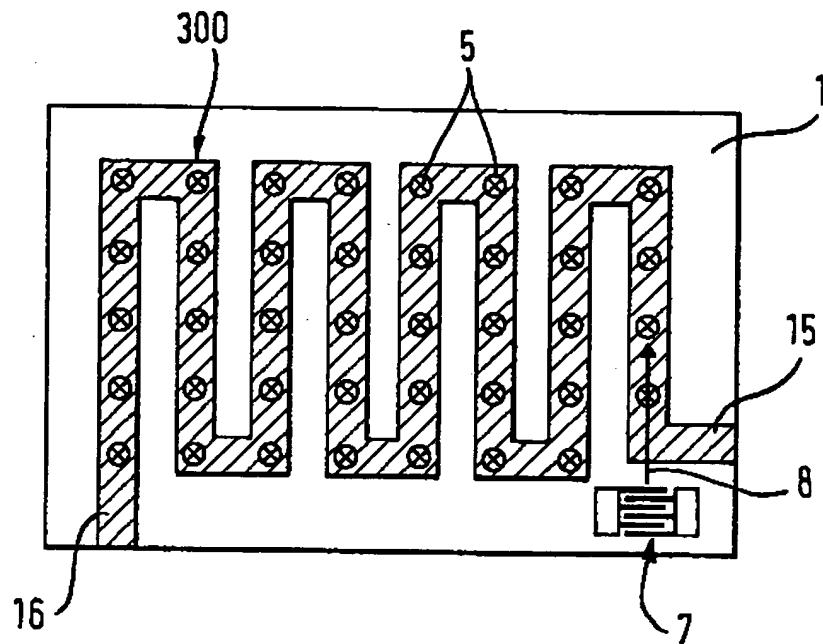


Fig. 5b

